

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication :
(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

2 254 336

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 74 41513

-
- (54) Nouveaux dérivés de mitomycine C.
- (51) Classification internationale (Int. Cl.²). A 61 K 31/40; C 07 D 487/14.
- (22) Date de dépôt 17 décembre 1974, à 15 h 40 mn.
- (33) (32) (31) Priorité revendiquée : Demande de brevet déposée au Japon le 17 décembre 1973,
n. 139.579/1973 au nom de la demanderesse.
-
- (41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande B.O.P.I. — «Listes» n. 28 du 11-7-1975.
-
- (71) Déposant : KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD., résidant au Japon.
-
- (72) Invention de :
- (73) Titulaire : *Idem* (71)
- (74) Mandataire : Cabinet Regimbeau, Corre, Paillet, Martin & Schrimpf.
-

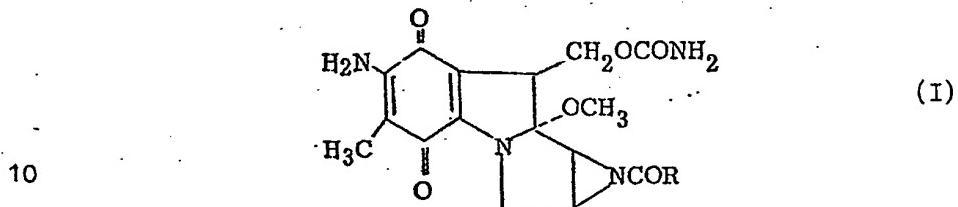
D

Venté des fascicules à l'IMPRIMERIE NATIONALE, 27, rue de la Convention — 75732 PARIS CEDEX 15

BEST AVAILABLE COPY

La présente invention concerne de nouveaux dérivés de mitomycine C.

Les nouveaux dérivés de mitomycine C selon la présente invention sont des dérivés 1a-aliphatique(supérieur)acylés répondant à la formule générale :



15 dans laquelle R est un radical hydrocarboné saturé ou à insaturation éthylénique ayant de 9 à 29 atomes de carbone ou de préférence de 9 à 21 atomes de carbone, ou bien un radical dans lequel
 15 un atome d'hydrogène dudit radical hydrocarboné aliphatique est substitué par un radical hydroxyle.

La mitomycine C est bien connue pour avoir une activité antibactérienne très importante à l'encontre des bactéries Gramme-négative et Gramme-positive. Ce composé est également 20 bien connu, en particulier parce qu'il possède une activité anticancéreuse très importante. Toutefois, comme la mitomycine C est en même temps très毒ique, on a cherché des dérivés variés de mitomycine C, qui présentent une toxicité plus faible. Par exemple, le brevet Américain 3 514 452 décrit des dérivés 25 1a-aliphatique(inférieur)acylés, tels que les dérivés 1a-acétyl- et 1a-butyryl-mitomycine C. Ces composés présentent une toxicité plus faible que la mitomycine C.

Toutefois, ces dérivés 1a-aliphatique(inférieur)acylés ne sont pas satisfaisants en ce qui concerne leur activité anti-30 cancéreuse et leur solubilité dans les lipides, c'est pourquoi un perfectionnement était nécessaire.

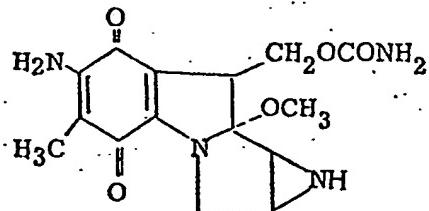
Les 1a-aliphatiques(inférieur)acyl-mitomycine C de la présente invention présentent une activité anticancéreuse supérieure et une solubilité dans les lipides supérieure à celles des 35 dérivés 1a-acylés connus. En outre, les nouveaux dérivés de mitomycine C selon la présente invention présentent une toxicité beaucoup

plus faible que celle de la mitomycine C.

Selon la présente invention les nouveaux dérivés de mitomycine C 1a-aliphatique supérieur acylés sont préparés par acylation de la mitomycine C ayant la formule :

5

10



avec un agent d'acylation aliphatique supérieur. Cet agent d'acylation peut être un acide gras supérieur, un anhydride d'acide gras supérieur, un halogénure d'acide gras supérieur, 15 un ester actif d'un acide gras supérieur ou un azide d'un acide gras supérieur. Selon la présente invention la réaction d'acylation peut être menée selon l'un des procédés utilisés pour l'acylation dans la synthèse des peptides.

Plus particulièrement les nouveaux dérivés de mitomycine C peuvent être préparé par :

1- réaction de mitomycine C avec un acide gras supérieur en présence d'un agent de déshydratation et de condensation utilisé ordinairement dans la synthèse des peptides, c'est à dire une carbodiimide;

25 2- réaction de la mitomycine C avec un anhydride d'acide gras supérieur ou un halogénure d'acide gras supérieur en présence d'une base ;

3- réaction de la mitomycine C avec un ester actif d'acide gras supérieur ou un azide d'acide gras supérieur.

30 Chacun des procédés cités précédemment est décrit en détail ci-après.

Dans le procédé 1- on fait réagir la mitomycine C avec un acide gras supérieur de formule RCOOH dans lequel R est un radical hydrocarboné aliphatique ayant de 9 à 29 atomes de carbone 35 et de préférence de 9 à 21 atomes de carbone ou un radical dans lequel un atome d'hydrogène dudit radical hydrocarboné est remplacé par un radical hydroxy, en présence d'un agent de déshy-

dratation et de condensation. La réaction est conduite dans un solvant inerte à une température comprise entre -50°C et 70°C de préférence -10°C à 30°C pendant plusieurs minutes et jusqu'à 50 heures de préférence de 30 minutes à 30 heures. Il n'existe pas de restriction particulière en ce qui concerne les quantités d'acide gras supérieur et d'agents de condensation et de déshydratation à utiliser. Toutefois, il est préférable d'utiliser l'acide gras et l'agent de déshydratation et de condensation en des quantités supérieures à la quantité équimolaire par rapport à la quantité de mitomycine C. Comme exemple d'acide gras supérieur utilisable on peut citer l'acide décanoïque, l'acide undécanoïque, l'acide 10-undécénique, l'acide laurique, l'acide tridécanoïque, l'acide 2-tridécénique, l'acide myristique, l'acide trans-2-tétradécénique, l'acide pentadécanoïque, l'acide palmitique, l'acide heptadécanoïque, l'acide stéarique, l'acide hydroxystéarique, l'acide iso-stéarique, l'acide linolénique, l'acide linoléique, l'acide oléique, l'acide ricinoléique, l'acide vaccénique, l'acide elaidique, l'acide nona-décanoïque, l'acide arachidique, l'acide bénénique, l'acide lignocérique, l'acide érucique, l'acide trans-1,3-décosénoïque, l'acide montanique et l'acide melissique.

Comme agents de déshydratation et de condensation utilisables on peut citer les carbodiimides tel que la dicyclohexyl-carbodiimide, ditolyl-carbodiimide, pentaméthylène - 25 cétène-cyclohexylcarbodiimide, N-cyclohexyl-N'-(morpholinoéthyl) carbodiimide, N-cyclohexyl-N-(diéthylaminocyclohexyl) carbodiimide, diisopropyl-carbodiimide, di-n-propyl-carbodiimide, et diphénylcétène-p-toluylimide; N,N-dialkylcyanamides tels que N,N-diméthylcyanamide et N,N-diéthylcyanamide; alcoxyacétylène 30 tels que éthoxyacétylène et isopropoxyacétylène et α -chlorovinyléther et le tétraéthyl phosphite.

Comme solvants inertes les solvants utilisés normalement dans la synthèse des peptides, qui utilisent les agents de déshydratation et de condensation cités précédemment, peuvent être utilisés. On peut citer par exemple, l'eau, les hydrocarbures aliphatiques inférieurs halogénés tels que le chloroforme 35 le dichloroéthylène, le chlorure de méthylène, le tétra-chloro-

éthane et le tri-chloroéthylène; les esters alcoylés inférieurs des acides gras inférieurs tels que l'acétate d'éthyle, l'acétate d'isopropyl, l'acétate de butyl, et le propionate d'éthyl; des alcools tels que le méthanol, l'éthanol, l'isopropanol, 5 le t-butanol; les amides d'acide gras inférieurs dialcoylés tels que le diméthyl formamide et le diéthyl formamide ; des cétones tels que l'acétone, et la méthyléthylcétone ; des hydrocarbures aromatiques tels que le benzène, le toluène et le xylène ; des éthers aliphatiques inférieurs ou alicycliques inférieurs 10 tels que le tétrahydrofurane, le dioxane et l'éther éthylique; des composés hétérocycliques tels que la pyridine, la pyrazine et le furane et des nitriles tels que l'acetonitrile, le propionitrile et le butyronitrile.

Dans le procédé 2 on fait réagir la mitomycine C avec 15 un anhydride d'acide gras supérieur de formule $(RCO)_2O$ (dans laquelle R a la signification donnée précédemment) ou un halogénure d'acide gras supérieur de formule $RCOX$ (dans laquelle R a la signification donnée précédemment et X est un halogène tels que Cl, Br et I) en présence d'une base.

20 La réaction est conduite dans un solvant inerte à une température comprise entre -50°C et 70°C de préférence -10°C à 30°C pendant de quelques minutes à 50 heures et de préférence de 30 minutes à 30 heures. L'anhydride ou l'halogénure d'acide gras supérieur est employé de préférence en une quantité supérieure 25 à la quantité équimolaire par rapport à la quantité de mitomycine C. De plus, il est préférable d'utiliser une quantité de base supérieure à la quantité équimolaire correspondant à la quantité d'anhydride ou d'halogénure d'acide gras supérieur utilisé.

Les anhydrides d'acide gras supérieur utilisables dans 30 le procédé 2 sont notamment les anhydrides correspondants aux acides cités précédemment. Les halogénures d'acides gras supérieurs qui peuvent être utilisés sont notamment les chlorures et les bromures des acides gras supérieurs cités précédemment.

A titre d'exemple de base utilisable dans ce procédé 35 on peut citer les amines tertiaires tels que la triéthylamine, la triméthylamine, la tripropylamine, la diméthylaniline et la diéthylaniline; les composés hétérocycliques comme la pyridine,

la pyrimidine; les hydroxydes de métal alcalin ou alcalino-terreux comme l'hydroxyde de sodium, l'hydroxyde de potassium, et l'hydroxyde de calcium, les carbonates ou bicarbonates de métal alcalin ou alcalino-terreux tels que le carbonate de potassium et l'hydrogénocarbonate de sodium et des résines échangeuses d'anions comme Dowex 1 (marque de fabrique pour une résine échangeuse d'anions fortement basique produite par la firme Dow Chemical CO., U.S.A.), Amberlite IRA-400 (marque de fabrique pour une résine échangeuse d'anions fortement basique commercialement utilisée par la firme Rohm et Haas CO., U.S.A.).

Le solvant inerté utilisé dans le procédé 2 peut être choisi parmi les hydrocarbures aliphatiques inférieurs hydrogénés tels que le chloroforme, le dichloroéthylène, le chlorure de méthylène, le tétra-chloroéthane et le tri-chloroéthylène; les esters alcoylés inférieurs des acides gras inférieurs tels que l'acétate d'éthyle, l'acétate d'isopropyle, l'acétate de butyle, et le propionate d'éthyle; les amides d'acide gras inférieurs dialcoylés tels que le diméthyl-formamide et le diéthyl-formamide; des cétones tels que l'acétone, et la méthyléthylcétone; des hydrocarbures aromatiques tels que le benzène, le toluène et le xylène; des éthers aliphatiques inférieurs ou alicycliques inférieurs tels que le tétrahydrofurane, le dioxane et l'éther éthylique; des composés hétérocycliques tels que la pyridine, la pyrazine et le furane et des nitriles tels que l'acetonitrile, le propionitrile et le butyronitrile.

Enfin, lorsque les nouveaux dérivés de mitomycine C selon la présente invention sont préparés par le procédé 3 on fait réagir la mitomycine C avec a- un ester actif d'acide gras supérieur de formule : RCOOR' (dans laquelle R a la même signification que précédemment et R' est un reste d'un ester actif utilisé dans la synthèse des peptides), ou b- un azide d'acide gras supérieur de formule RCON₃ (dans laquelle R à la même signification que précédemment).

La réaction du procédé 3 est conduite dans un solvant inerté à une température comprise entre -50°C et 70°C et de préférence entre -10°C à 30°C pendant de quelques minutes à 50 heures de préférence pendant de 30 minutes à 30 heures.

De préférence on utilisera une quantité de l'ester actif de l'acide gras supérieur ou de l'azide d'acide gras supérieur, supérieur à la quantité équimolaire correspondant à la quantité de mitomycine C.

5 A titre d'exemple de groupe ester R' de l'ester actif d'acide gras supérieur, il faut mentionner le groupe p-nitrophényle le groupe penta-chlorophényle et le groupe méthoxy-méthyle.

Pour ce qui concerne la portion acide gras supérieur de l'ester actif d'acide gras supérieur ou de l'azide d'acide 10 gras supérieur utilisable dans le procédé 3 il faut citer les acides gras supérieurs qui ont déjà été décrits dans le procédé 1. Tous les solvants inertes mentionnés dans la description du procédé 2 peuvent être utilisés dans le présent procédé.

Dans les procédés 1, 2 et 3 lorsque la réaction est 15 complète le mélange réactionnel est concentré si nécessaire après l'avoir filtré et le concentrat est soumis à une extraction par exemple à l'aide d'acétate d'éthyle et de chloroforme. Puis l'extrait est purifié par des procédés connus tels que la chromatographie sur gel de silice.

20 De cette façon on obtient les 1a-aliphatiques (supérieurs) acyl-mitomycine C désirés.

Le tableau I représente le spectre antibactérien et la toxicité aiguë de divers dérivés 1a-acylés de mitomycine C selon la présente invention.

La toxicité aiguë (déterminée par la DL 50) est déterminée après injection intraperitoneale chez la souris.

Tableau I

		Concentration inhibitrice minimale ($\mu\text{g/ml}$)			Toxicité aiguë DL 50 mg/kg
		Streptococcus faecalis ATCC 10541	Staphylococcus aureus ATCC 6538P	Klebsiella pneumoniae ATCC 10031	
10	Mitomycine C	0,391	0,049	< 0,025	9,0
	1a-acétyl-mitomycine C	6,25	1,563	0,782	23,0
15	1a-butyryl-mitomycine C	25	3,125	3,125	19,0
	1a-crotonoyl-mitomycine C	12,5	1,563	0,782	35,5
20	1a-décanoyle-mitomycine C	> 50	0,782	12,5	67,5
	1a-lauroyle-mitomycine C	> 50	0,391	> 50	44,5
25	1a-myristoyl-mitomycine C	1,563	0,391	> 50	45
	1a-palmitoyl-mitomycine C	0,782	0,782	> 50	75
	1a-stéaroyl-mitomycine C	> 50	> 50	> 50	75
30	1a-oléoyl-mitomycine C	1,563	0,782	> 50	105
	1a-ricinoléoyl-mitomycine C	0,782	0,391	0,782	60
35	1a-vaccénoyl-mitomycine C	3,125	0,782	50	105
	1a-linoléoyl-mitomycine C	0,782	0,782	12,5	110
	1a-linolénoyl-mitomycine C	1,563	0,782	6,25	95
40	1a-ercoyl-mitomycine C	> 50	> 50	50	125

Comme on peut le constater, d'après le tableau 1 ci-dessus, les nouveaux dérivés de mitomycine C de l'invention présentent une forte activité anti-bactérienne, en particulier contre les bactéries à Gram positif. Ces composés possèdent une toxicité réduite par rapport à la mitomycine C ($DL_{50} = 9,0 \text{ mg/kg}$).

La solubilité lipidique de certains des composés de l'invention est comparée à celle de la mitomycine C. Pour déterminer la solubilité lipidique, on utilise comme témoin le rapport de distribution du composé dans l'eau et le butanol (1:1). Les résultats sont rapportés au tableau 2 ci-dessous.

Tableau 2

Rapport de distribution de la mitomycine C et des dérivés 1a-acylés de mitomycine C de l'invention.

Composés	Rapport de distribution (dans le butanol/eau (1:1) à 25°C) (butanol/eau)
Mitomycine C	2,471
1a-acétyl mitomycine C	3,749
1a-butyryl mitomycine C	4,402
1a-décanoyle mitomycine C	7,889
1a-linoléoyl mitomycine C	9,665

Comme on peut le constater sur le tableau 2, la solubilité lipidique des dérivés de mitomycine C selon l'invention est remarquablement améliorée. Même comparés à des dérivés 1a-acylés tels qu'un dérivé acétylé de mitomycine C et un dérivé butyrylé de mitomycine C, les dérivés 1a-acylés de mitomycine C de l'invention possèdent une solubilité lipidique considérablement améliorée. De plus, l'activité anti-tumorale des dérivés 1a-acylés de mitomycine C selon l'invention contre la tumeur solide du Sarcome 180 chez la souris est déterminée. Des petites portions de tumeur solide du Sarcome 180 sont transplantées de façon sous-cutanée chez des souris mâles d'espèce dd d'environ 20 g de poids corporel. A chacune de dix souris chez lesquelles on a transplanté la tumeur, on administre par voie intrapéritonéale une solution contenant 1/6 de la

valeur DL_{50} du composé de l'essai, une fois par jour pendant huit jours à compter du jour suivant la transplantation.

Comme témoin, on injecte un volume égal d'une solution physiologique, de la même manière que ci-dessus. Le dixième jour 5 après la transplantation, on sacrifie les souris et on mesure le poids de la tumeur. On calcule le rapport du poids moyen de la tumeur des animaux de l'essai au poids moyen de la tumeur des animaux témoins (T/C). Les résultats sont rapportés au tableau 3.

10

Tableau 3

Action des dérivés 1a-acylés de mitomycine C chez des souris portant le Sarcome 180 (solide).

15	Substituant de la position 1a	Sarcome 180 (T/C)
	H (i.e. mitomycine C)	0,35
	COCH ₃	0,48
	COCH ₂ CH ₂ CH ₃	0,59
20	COCH=CHCH ₃	0,53
	CO(CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ CH ₃	0,31
	CO(CH ₂) ₇ CH=CHCH ₂ CH(CH ₂) ₅ CH ₃ OH	0,28
	CO(CH ₂) ₉ CH=CH(CH ₂) ₅ CH ₃	0,34
25	CO(CH ₂) ₇ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₄ CH ₃	0,35

On constate d'après le tableau 3 que les dérivés de 1a-aliphatique(supérieur)acyl-mitomycine C de l'invention présentent une activité anti-tumorale contre la tumeur solide 30 du Sarcome 180 qui est nettement supérieure à celle des dérivés bien connus de 1a-aliphatique(inférieur)acyl-mitomycine C et cette activité est comparable ou même supérieure à celle de la mitomycine C.

En raison de leur toxicité réduite, de leur solubilité lipidique améliorée et de leur excellente activité anti-tumorale, les dérivés 1a-aliphatique(supérieur)acyl-mitomycine C de l'invention sont considérés comme des composés très utiles.

Le dessin annexé illustre les spectres d'absorption infrarouge d'un certain nombre de dérivés 1a-acylés de mitomycine C de l'invention.

- La figure 1 représente le spectre d'absorption de la
5 1a-décanoyl mitomycine C ;
la figure 2 représente le spectre d'absorption de la
1a-lauroyloyl mitomycine C ;
la figure 3 représente le spectre d'absorption de la
1a-myristoyl mitomycine C ;
10 la figure 4 représente le spectre d'absorption de la
1a-palmitoyl mitomycine C ;
la figure 5 représente le spectre d'absorption de la
1a-stéaroyl mitomycine C ;
la figure 6 représente le spectre d'absorption de la
15 1a-oléoyl mitomycine C ;
la figure 7 représente le spectre d'absorption de la
1a-ricinoléoyl mitomycine C ;
la figure 8 représente le spectre d'absorption de la
1a-vaccénoyl mitomycine C ;
20 la figure 9 représente le spectre d'absorption de la
1a-linoléoyl mitomycine C ;
la figure 10 représente le spectre d'absorption de la
1a-linolénoyl mitomycine C ; et
la figure 11 représente le spectre d'absorption de la
25 1a-ercoyl mitomycine C.

Exemple 1

Production de la 1a-décanoyl mitomycine C

On ajoute 2060 mg de dicyclohexylcarbodiimide et
30 1720 mg d'acide décanoïque à 100 ml de chlorure de méthylène.
On agite le mélange à 5°C pendant 30 minutes. Puis on ajoute au
mélange 668 mg de mitomycine C et on agite le mélange à la
température ambiante pendant 15 heures. On sépare par filtration
le précipité blanc qui s'est formé et on concentre le filtrat
35 sous pression réduite. Le résidu concentré est soumis à une
chromatographie sur colonne de gel de silice en employant un
révélateur acétone-chloroforme (1:1). L'éluat est concentré à
siccité sous pression réduite. On obtient 900 mg de 1a-décanoyl
mitomycine C à l'état brut sous forme d'une poudre de couleur

pourpre avec un rendement de 90 %. Point de fusion : 140 à 142°C. Le produit ainsi obtenu présente une valeur de Rf supérieure à celle de la mitomycine C par chromatographie en couche mince sur gel de silice en employant un révélateur acétone-chloroforme (1:1). La figure 1 illustre un spectre d'absorption infrarouge du produit sous forme de pastille de KBr.

Exemple 2

Production de 1a-lauroyl mitomycine C

On ajoute 500 mg de mitomycine C et 5 ml de triéthylamine à 50 ml de tétrahydrofurane. On refroidit le mélange avec de la glace. On ajoute progressivement et goutte à goutte une solution de 2 ml de chlorure de lauryl dans 100 ml de tétrahydrofurane au mélange pendant environ 7 heures. Lorsque l'addition est achevée, on filtre le mélange réactionnel et on concentre le filtrat sous pression réduite. On traite le résidu de la même manière que dans l'exemple 1. On obtient 500 mg de 1a-lauroyl mitomycine C à l'état brut sous forme d'une poudre de couleur pourpre avec un rendement de 65 %. Point de fusion : 50 à 60°C.

La 1a-lauroyl mitomycine C ainsi obtenue présente une valeur de Rf supérieure à celle de la mitomycine C par chromatographie en couche mince sur gel de silice en employant un révélateur acétone-chloroforme (1:1). La figure 2 illustre un spectre d'absorption infrarouge du produit sous forme de pastille de KBr.

Exemple 3

Production de 1a-myristoyl mitomycine C

On ajoute 668 mg de mitomycine C et 5 g d'hydrogénocarbonate de sodium à 50 ml de chloroforme et on refroidit le mélange avec de la glace. On ajoute goutte à goutte au mélange pendant environ 10 heures une solution de 1 ml de bromure de myristyle dans 50 ml de dioxanne. Lorsque l'addition est achevée, on traite le mélange réactionnel de la même façon que l'exemple 2. On obtient 920 mg de 1a-myristoyl mitomycine C à l'état brut sous forme d'une poudre de couleur pourpre avec un rendement de 84,5 %. Point de fusion : 65 à 75°C. La 1a-myristoyl mitomycine C ainsi obtenue présente une valeur de Rf supérieure

à celle de la mitomycine C par chromatographie en couche mince sur gel de silice en employant un révélateur acétone-chloroforme (1:1). La figure 3 représente un spectre d'absorption infrarouge du produit sous forme de pastille de KBr.

5 Exemple 4

Production de 1a-palmitoyl mitomycine C

a) On ajoute 2 g d'anhydride de l'acide palmitique et 668 mg de mitomycine C à 50 mg de pyridine et on agite le mélange à la température ambiante pendant 15 heures. Le mélange réactionnel résultant est soumis à extraction avec de l'acétate d'éthyle. On lave l'extrait avec de l'eau. On séche la couche d'acétate d'éthyle avec du sulfate de sodium anhydre et on filtre la matière sèche. On concentre le filtrat sous pression réduite. On traite le résidu de la même manière qu'à l'exemple 1. On obtient 1 g de 1a-palmitoyl mitomycine C à l'état brut sous forme d'une poudre de couleur pourpre avec un rendement de 87 %. Point de fusion : 63 à 73°C.

La 1a-palmitoyl mitomycine C ainsi obtenue présente une valeur de Rf supérieure à celle de la mitomycine C par chromatographie en couche mince sur gel de silice en employant un révélateur acétone-chloroforme (1:1). La figure 4 illustre un spectre d'absorption infrarouge du produit sous forme de pastille de KBr.

b) On ajoute 1 g de carbonate de potassium, 0,4 g d'anhydride de l'acide palmitique et 66,8 mg de mitomycine C à 10 ml de diméthyl-formamide et on agite le mélange à la température ambiante pendant 7 heures. On traite le mélange réactionnel de la même manière qu'à l'exemple 4-(a) ci-dessus et on obtient 82 mg d'une poudre de couleur pourpre avec un rendement de 71 %. Le chromatogramme en couche mince sur gel de silice et le spectre d'absorption d'infrarouge du produit ainsi obtenu sont identiques à ceux du composé obtenu à l'exemple 4-(a) ci-dessus.

35 Exemple 5

Production de 1a-stéaroyl mitomycine C

On ajoute 1 g de stéarate de méthyle et 0,5 g d'hydrate d'hydrazine à 14 ml d'éthanol et on agite le mélange

à la température ambiante pendant 15 heures. Le mélange réactionnel résultant est concentré sous pression réduite. On ajoute 10 ml d'eau au résidu et on le refroidit à 0°C. On ajoute au mélange 2 ml d'acide acétique et ensuite une solution de 1,4 g de nitrite de sodium dans 10 ml d'eau. On soumet le mélange à une extraction avec de l'éther. On lave la couche de l'éther avec de l'eau, on la sèche avec du sulfate de magnésium anhydre et on sépare le sulfate de magnésium par filtration. On concentre le filtrat sous pression réduite. On ajoute au résidu 5 50 ml de tétrahydrofurane et 668 mg de mitomycine C et on agite le mélange pendant 15 heures. Lorsque la réaction est achevée, on concentre le mélange réactionnel sous pression réduite et on soumet le résidu à une chromatographie sur colonne de gel de silice de la même façon qu'à l'exemple 1 et on obtient 10 15 430 mg de 1a-stéaroyl mitomycine C à l'état brut sous forme d'une poudre de couleur pourpre avec un rendement de 36 %. Point de fusion : 65 à 74°C. La 1a-stéaroyl mitomycine C ainsi obtenue présente une valeur de Rf supérieure à celle de la mitomycine C par chromatographie en couche mince sur gel de silice en employant 20 25 un révélateur acétone-chloroforme (1:1). La figure 5 illustre un spectre d'absorption infrarouge du produit sous forme de pastille de KBr.

Exemple 6.

25 Production de 1a-oléoyl mitomycine C

On dissout 565 mg d'acide oléique et 204 mg de triéthylamine dans un mélange de 5 ml de toluène et de 5 ml de chloroforme. On refroidit la solution à -5°C. On y ajoute 241 mg de chlorure d'isovaléryle et on agite pendant 2 heures. Puis, 30 on y ajoute 668 mg de mitomycine C et 50 ml de chloroforme et on agite le mélange à 10°C pendant 15 heures. On lave le mélange réactionnel avec de l'eau, on le sèche avec du sulfate de sodium anhydre et on le filtre. On concentre le filtrat sous pression réduite. On purifie le concentrat par chromatographie sur 35 colonne de gel de silice de la même manière qu'à l'exemple 1 et on obtient 420 mg de 1a-oléoyl mitomycine C à l'état brut sous forme d'une poudre de couleur pourpre avec un rendement de 35 %. Point de fusion : 50 à 57°C.

La 1a-oléoyl mitomycine C ainsi obtenue présente une

valeur de Rf supérieure à celle de la mitomycine C par chromatographie en couche mince sur gel de silice en employant un révélateur acétone-chloroforme (1:1). La figure 6 illustre un spectre d'absorption infrarouge du produit sous forme de pastille de KBr.

5

Exemple 7

Production de 1a-ricinoléoyl mitomycine C

On ajoute 2700 mg de ditolylcarbodiimide et 2984 mg
10 d'acide ricinoléique à 100 ml d'acétonitrile. On agite le mélange pendant 30 minutes tout en le refroidissant avec de la glace. On ajoute au mélange 668 mg de mitomycine C. On agite le mélange à la température ambiante pendant 15 heures et le traite de la même manière qu'à l'exemple 1. On obtient 510 mg de 1a-
15 ricinoléoyl mitomycine C sous forme d'une poudre de couleur pourpre avec un rendement de 41 %. Point de fusion : 50 à 54°C. La 1a-ricinoléoyl mitomycine C ainsi obtenue présente une valeur de Rf supérieure à celle de la mitomycine C par chromatographie en couche mince de gel de silice en employant un révélateur
20 acétone-chloroforme (1:1). La figure 7 illustre un spectre d'absorption infrarouge du produit sous forme de pastille de KBr.

Exemple 8

Production de 1a-vaccénoyl mitomycine C

25 On ajoute 900 mg de vaccénate de p-nitrophényle et 668 mg de mitomycine C à 100 ml de chloroforme. On agite le mélange à la température ambiante pendant 20 heures et on le concentre sous pression réduite. On soumet le résidu à une chromatographie sur colonne de gel de silice de la même manière
30 qu'à l'exemple 1 et on obtient la 1a-vaccénoyl mitomycine C à l'état brut sous forme d'une poudre de couleur pourpre avec un rendement de 68 %. Point de fusion : 54 à 64°C. Par chromatographie en couche mince sur gel de silice en employant un révélateur acétone-chloroforme (1:1), la 1a-vaccénoyl mitomycine
35 C ainsi obtenue présente une valeur de Rf supérieure à celle de la mitomycine C. La figure 8 illustre un spectre d'absorption infrarouge du produit sous forme de pastille de KBr.

Exemple 9Préparation de la 1a-linoléoyl mitomycine C

- a) On ajoute 1,260 mg de di-n-propylcarbodiimide et 2,804 mg d'acide linoléique à 100 ml d'acétate d'éthyle.
- 5 Le mélange est agité pendant 30 mn en refroidissant avec de la glace. Puis on ajoute 668 mg de mitomycine C, on agite à la température ambiante pendant 15 heures. Le mélange réactionnel est traité de la même manière qu'à l'exemple 1. On obtient 970 mg de 1a-linoléine mitomycine C brut sous forme d'une poudre de couleur pourpre avec un rendement de 81%, le point de fusion du produit étant compris entre 75°C et 85°C. La 1a-linoléoyl-mitomycine C obtenue présente une valeur de Rf supérieure à la mitomycine C dans une chromatographie en couche mince de gel de silice en utilisant comme révélateur un mélange acétone/chloroforme (1:1). La figure 9 représente le spectre d'absorption infra-rouge de la 1a-linoléoyl-mitomycine C en pastille de KBr.
- b) 126 mg de diisopropylcarbodiimide sont ajoutés à 280mg d'acide linoléique dans 10 ml d'eau. Le mélange est agité pendant 30 mn en refroidissant avec de la glace. Puis l'on ajoute 66,8 mg de mitomycine C et l'on agite à la température ambiante pendant 30heures. Le mélange réactionnel est extrait avec de l'acétate d'éthyle. La couche d'acétate d'éthyle est séchée sur sulfate de sodium anhydre et filtrée. Le filtrat est concentré sous pression réduite. Le résidu de concentration est purifié par chromatographie sur colonne de gel de silice de la même façon que dans l'exemple 1. On obtient avec un rendement de 61%, 73 mg d'une poudre de couleur pourpre. Le chromatogramme en couche mince de gel de silice et le spectre d'absorption infra-rouge du produit ainsi obtenu sont identique à ceux du composé obtenu à l'exemple 9 a) ci-dessus.
- c) 206 mg de dicyclohexylcarbodiimide sont ajoutés à 280 mg d'acide linoléique dans 10 ml de diméthylformamide. Le mélange est agité 30 mn en refroidissant avec de la glace. On ajoute 66,8 mg de mitomycine C et le mélange est agité à la température ambiante pendant 15 heures. Puis le mélange de réaction est traité de la même façon qu'à l'exemple 1. On obtient 57 mg d'une poudre de couleur pourpre avec un rendement de 48%.

Le chromatogramme en couche mince sur gel de silice et le spectre d'absorption infra-rouge du composé ainsi obtenu sont identiques avec ceux du produit obtenu à l'exemple 9 a)

d) En suivant le même processus que celui décrit dans
5 l'exemple 9 c) mais en utilisant 10 ml de pyridine au lieu de diméthylformamide on obtient 21 mg d'une poudre de coloration pourpre avec un rendement de 18%. Le chromatogramme en couche mince sur gel de silice et le spectre d'absorption infra-rouge du produit ainsi obtenu sont identiques à ceux du composé
10 obtenu à l'exemple 9a).

e) En suivant le même processus que celui décrit dans l'exemple 9c) mais en utilisant 10 ml de n-propanol au lieu de diméthylformamide on obtient avec un rendement de 37%, 44 mg d'une poudre de couleur pourpre. Le chromatogramme en couche
15 mince sur gel de silice est le spectre d'absorption infra-rouge du composé ainsi obtenu sont identiques avec ceux du produit obtenu à l'exemple 9 a).

f). En suivant le même processus que celui décrit dans l'exemple 9 c) mais en utilisant 10 ml de dioxane au lieu de
20 diméthylformamide on obtient avec un rendement de 71%, 91 mg d'une poudre de coloration pourpre. Le chromatogramme en couche mince sur gel de silice et le spectre d'absorption infra-rouge du composé ainsi obtenu sont identiques avec ceux du produit obtenu à l'exemple 9 a).

25 g) En suivant le même processus que celui décrit dans l'exemple 9 c) mais en utilisant 10 ml de benzène au lieu de diméthylformamide on obtient, avec un rendement de 30%, 36 mg d'une poudre de coloration pourpre. Le chromatogramme en couche mince sur gel de silice et le spectre d'absorption infra-rouge
30 du composé ainsi obtenu sont identiques avec ceux du produit obtenu à l'exemple 9 a).

h) En suivant le même processus que celui décrit dans l'exemple 9 c) mais en utilisant 10 ml d'acétone au lieu de diméthylformamide on obtient, avec un rendement de 48%, 58 mg
35 d'une poudre de coloration pourpre. Le chromatogramme en couche mince sur gel de silice et le spectre d'absorption infra-rouge du composé ainsi obtenu sont identiques avec ceux du produit obtenu à l'exemple 9 a).

Exemple 10Préparation de la 1a-linolénoyl-mitomycine C

On ajoute 840 mg de N,N-diéthyl cyanamide à 2784 mg d'acide linolénique dans 100 ml de tétrahydrofurane. Le mélange 5 est agité à la température ambiante pendant 30 mn. On ajoute 668 mg de mitomycine C et le mélange est agité à la température ambiante pendant 15 heures. Le mélange réactionnel est ensuite traité comme dans l'exemple 1. On obtient ainsi, avec un rendement de 85%, 1020mg d'une poudre de coloration pourpre dont le point 10 de fusion est compris entre 83 et 90°C . Une chromatographie en couche mince sur gel de silice utilisant comme agent de développement un mélange acétone/chloroforme (1:1) montre que le produit obtenu présente une valeur Rf supérieure à celle de la mitomycine C. La figure 10 représente le spectre d'absorption 15 infra-rouge du produit dans une pastille de KBr.

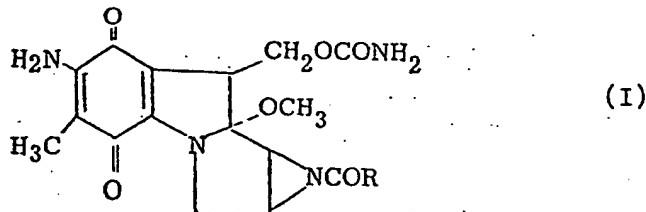
Exemple 11Préparation de la 1a-ercoyl-mitomycine C

On ajoute 5 g d'hydrogén carbonate de sodium à 668 mg de mitomycine C dans 50 ml de benzène. On ajoute goutte à goutte 20 en l'espace de 8 heures au mélange une solution de 1 ml de chlorure érucyl dans 50 ml de tétrahydrofurane. Puis en suivant le même processus que dans l'exemple 2 on obtient avec un rendement de 88%, 1160 mg de 1a-ercoyl-mitomycine C brut sous forme d'une poudre de coloration pourpre. Une chromatographie en couche mince 25 sur gel de silice utilisant comme agent de développement un mélange acétone/chloroforme (1:1) montre que le produit obtenu présente une valeur Rf supérieure à celle de la mitomycine C. La figure 11 représente le spectre d'absorption infra-rouge du produit dans une pastille de KBr.

REVENDICATIONS

1 - 1a-aliphatique(supérieur)acyl-mitomycine C de
formule générale

5



dans laquelle R représente un groupement aliphatique hydrocar-
boné comportant de 9 à 29 atomes de carbone, ou bien un tel
groupement aliphatique hydrocarboné dans lequel un atome d'hydro-
gène a été substitué par un groupement hydroxyle.

2 - Dérivés de mitomycine C de formule I, pour
lesquels R est un groupement aliphatique hydrocarboné saturé ou
15 à insaturation éthylénique, ou bien des dérivés de ces groupements
substitués par des radicaux hydroxyles.

3 - Dérivés de mitomycine C de formule I, pour
lesquels ledit groupement R contient de préférence de 9 à 21
atomes de carbone.

20 4 - Dérivés de mitomycine C de formule I, pour
lesquels R est un groupement aliphatique hydrocarboné comportant
de 9 à 29 atomes de carbone.

5 - Dérivés de mitomycine C de formule I, pour
lesquels R représente un groupé aliphatique hydrocarboné dans
25 lequel un atome d'hydrogène a été substitué par un groupement
hydroxyle.

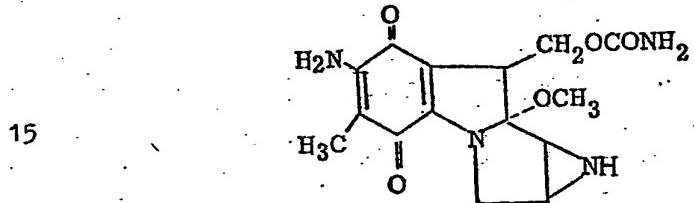
- 6 - 1a-décanoyl-mitomycine C.
- 7 - 1a-lauroyl-mitomycine C.
- 8 - 1a-myristoyl-mitomycine C.
- 30 9 - 1a-palmitoyl-mitomycine C.
- 10 - 1a-stéaroyl-mitomycine C.
- 11 - 1a-oléoyl-mitomycine C.
- 12 - 1a-ricinoléoyl-mitomycine C.
- 13 - 1a-vaccénoyl-mitomycine C.
- 35 14 - 1a-linoléoyl-mitomycine C.
- 15 - 1a-linolénoyl-mitomycine C.
- 16 - 1a-ercoyl-mitomycine C.

17 - A titre de médicaments nouveaux, les dérivés de formule I, selon l'une des revendications 1 à 16.

18 - Composition pharmaceutique, caractérisée par le fait qu'elle comporte, à titre d'agent actif, au moins l'un des 5 dérivés de formule I selon l'une des revendications 1 à 16.

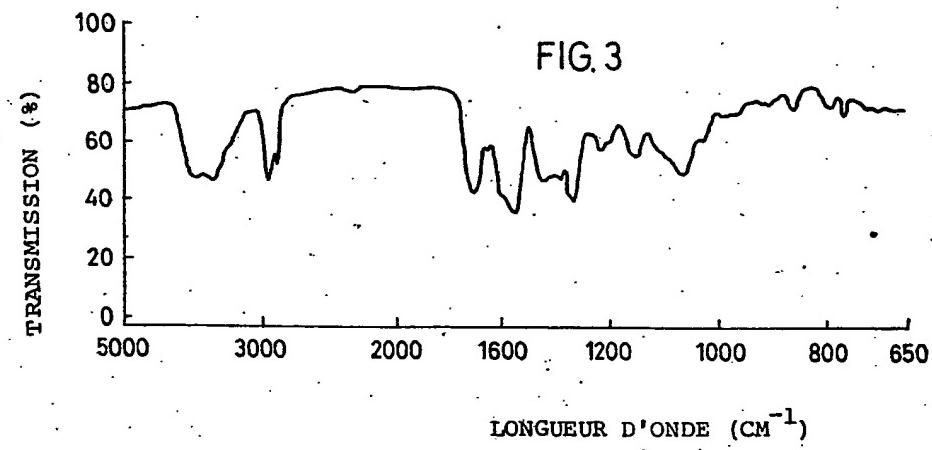
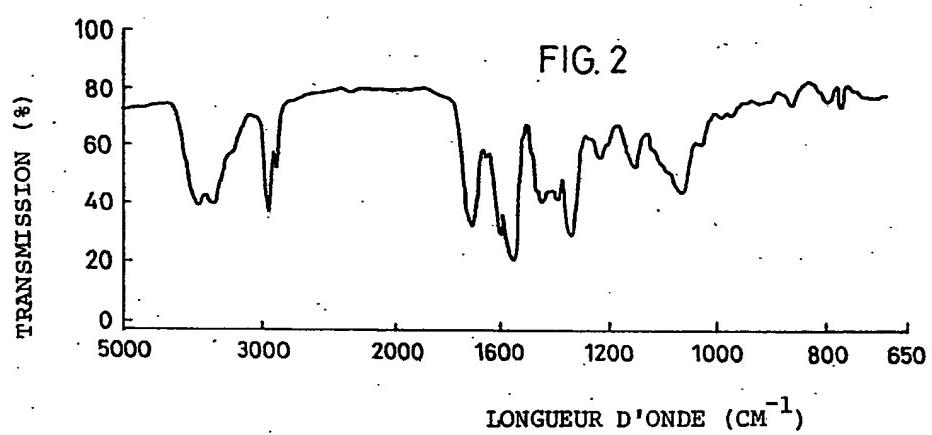
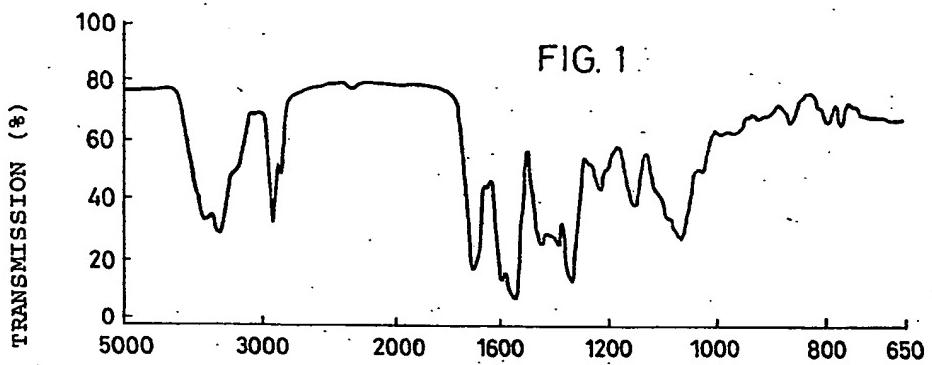
19 - Application de l'un des dérivés de formule I, selon l'une des revendications 1 à 16, en tant qu'agent anticancéreux.

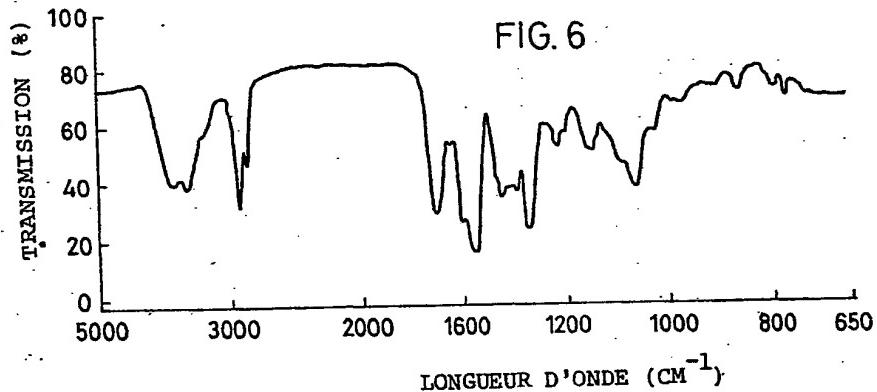
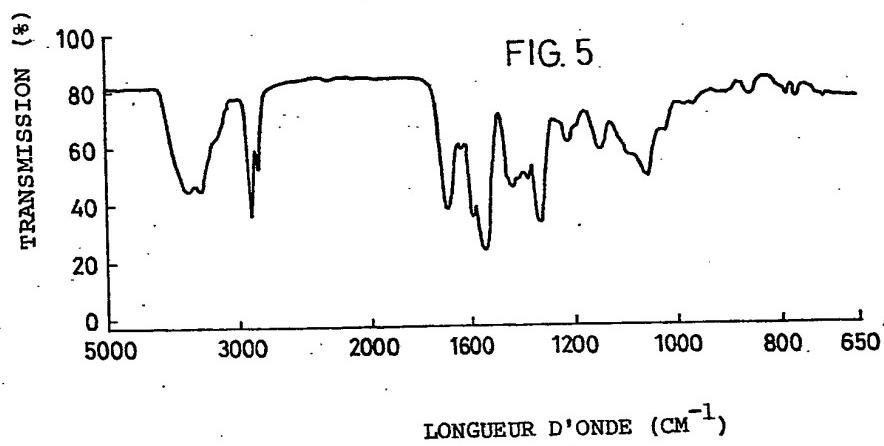
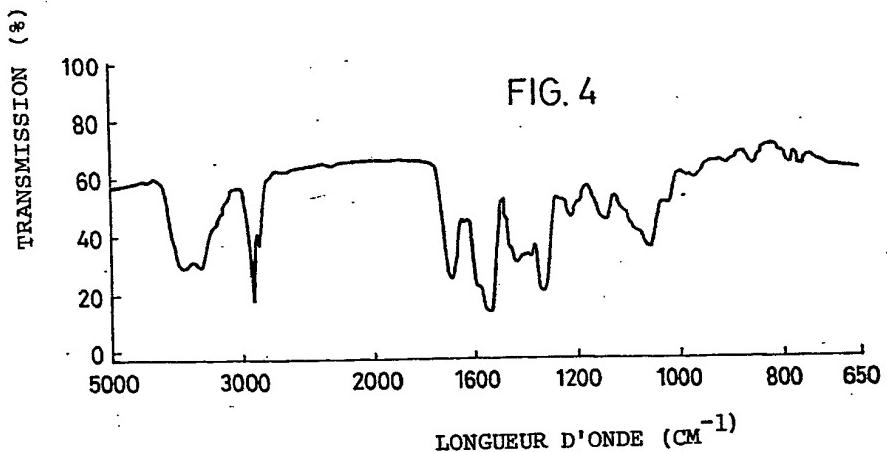
20 - Procédé de préparation d'un dérivé de formule I 10 selon la revendication 1, caractérisé par le fait qu'on acyle la mitomycine C de formule



à l'aide d'un agent d'acylation aliphatique supérieur.

21 - Procédé selon la revendication 20, caractérisé 20 par le fait que l'agent d'acylation est choisi parmi les acides gras supérieurs, les anhydrides ou halogénures correspondants, les esters actifs correspondants ou les azides.





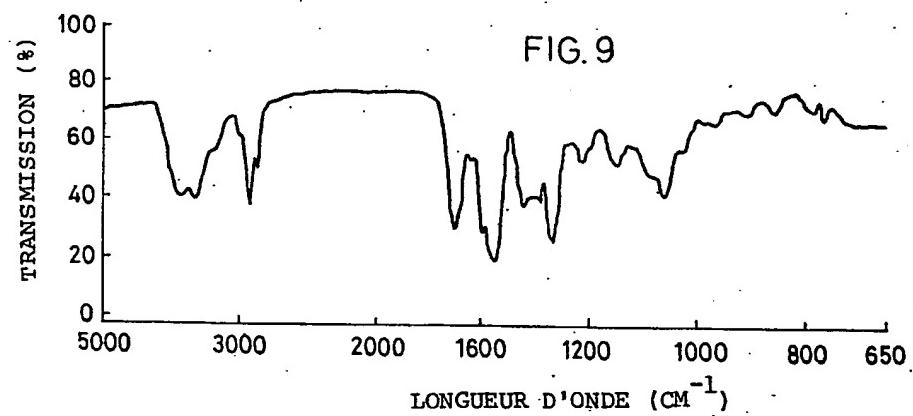
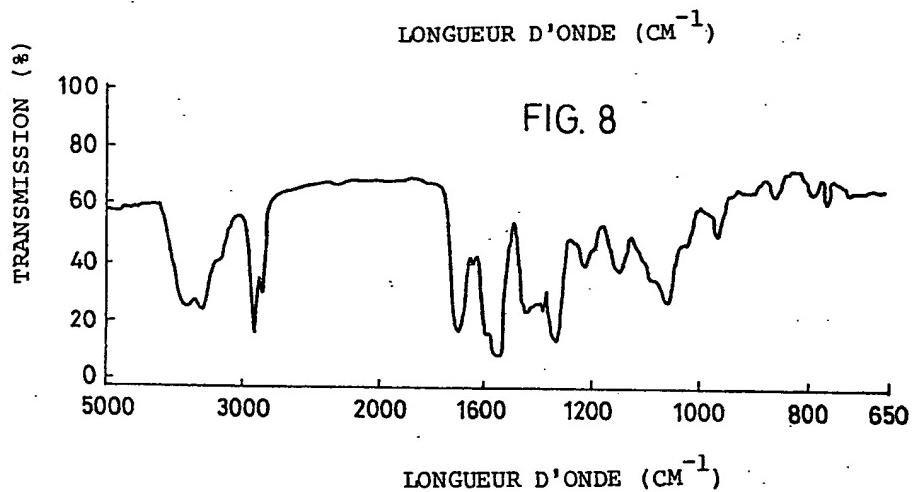
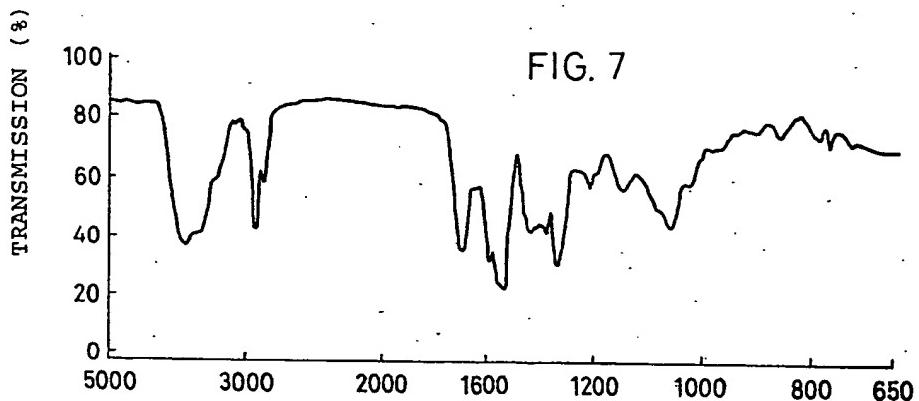


FIG. 10

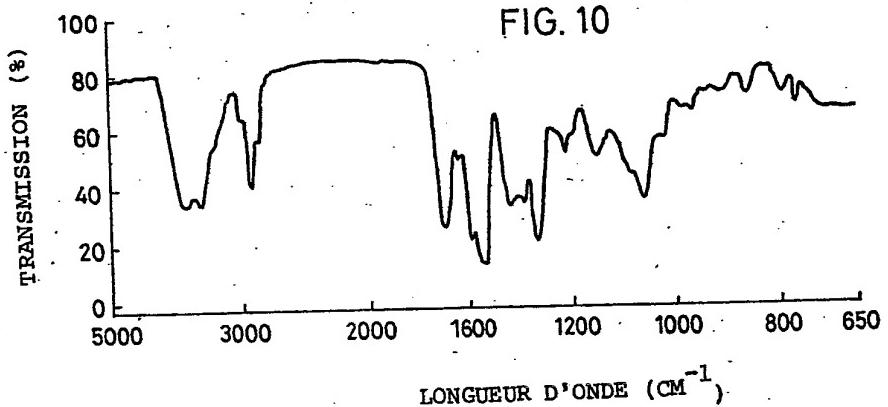
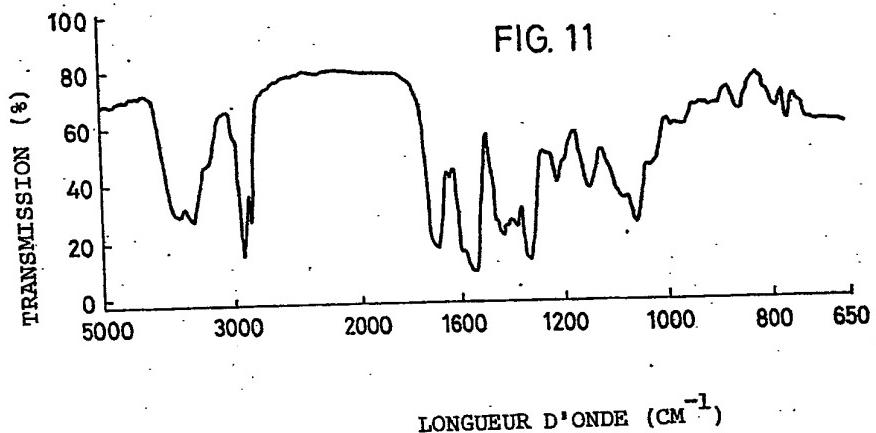


FIG. 11



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

BLACK BORDERS

- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

This Page Blank (uspto)